

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-119864

(43)公開日 平成8年(1996)5月14日

(51)Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 61 K 31/575	ACP			
31/19		9455-4C		
31/215		9455-4C		
C 07 J 9/00		7433-4C		
// A 61 K 35/84		A 8217-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 12 頁)

(21)出願番号 特願平7-159228	(71)出願人 390003757 小太郎漢方製薬株式会社 大阪府大阪市北区中津2丁目5番23号
(22)出願日 平成7年(1995)6月26日	(72)発明者 高橋 邦夫 埼玉県浦和市本太2-23-6
(31)優先権主張番号 特願平6-210039	(72)発明者 田井 孝明 大阪府池田市八王寺1-8-204-403
(32)優先日 平6(1994)9月2日	(74)代理人 弁理士 青山 葉 (外2名)
(33)優先権主張国 日本 (JP)	
特許法第30条第1項適用申請有り 平成7年3月5日、 日本薬学会発行の「日本薬学会第115年会講演要旨集2」 に発表	

(54)【発明の名称】 鎮吐薬

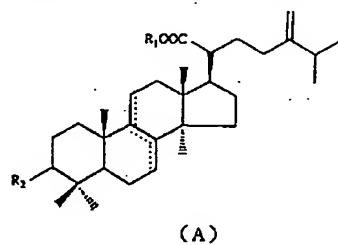
(57)【要約】

【目的】 本発明は、ラノスタン骨格または3,4-セコラノスタン骨格を有するトリテルペン類の少なくとも一種を有効成分とする、悪心、嘔吐の抑制に有用な鎮吐

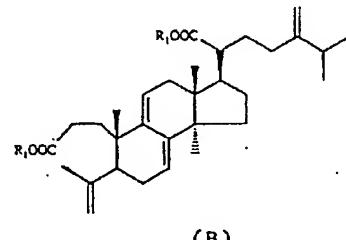
薬を提供するものである。

【構成】 式Aおよび式B:

【化1】



(A)



(B)

式A [式中、R₁は、Hまたは低級アルキルであり、R₂は、低級アルカノイルオキシであるか、または環を構成する炭素原子とともにC=Oを形成する]で示されるラノスタン骨格、または、式B [式中、R₁は、H、また

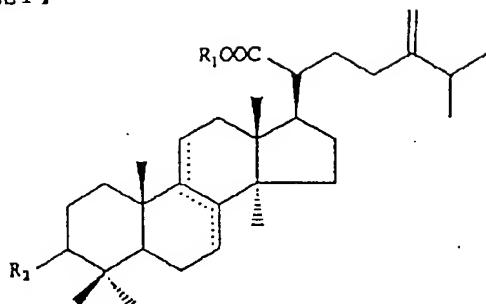
は低級アルキルである]で示される3,4-セコラノスタン骨格を有する化合物の少なくとも1種を有効成分として含む鎮吐薬。

1

【特許請求の範囲】

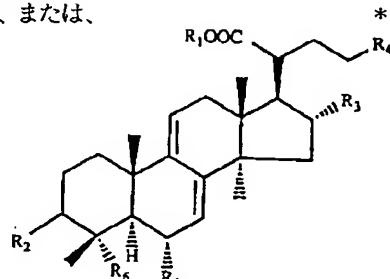
【請求項1】 式A：

【化1】



(A)

[式中、R₁は、Hまたは低級アルキルであり、R₂は、低級アルカノイルオキシであるか、または環を構成する炭素原子とともにC=Oを形成する]で示されるラノスタン骨格、または、

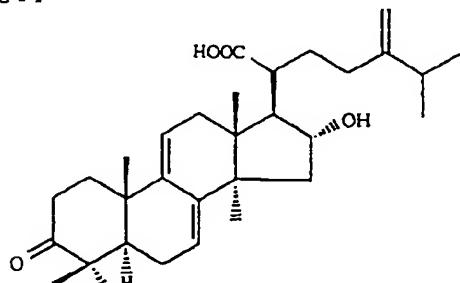


(I)

[式中、R₁は、HまたはCH₃であり、R₂は、-OC(=O)CH₃であるか、または環を構成する炭素原子とともにC=Oを形成し、R₃およびR₅は、同一または異なって、HまたはOHであり、R₄は、-C(=CH₂)-CH(CH₃)₂-Ra (ここで、Raは、HまたはOHを示す)であり、R₆は、CH₃またはCH₂OHである。]で示されるラノスタン骨格を有するトリテルペン類の少なくとも1種を有効成分として含む請求項1記載の鎮吐薬。

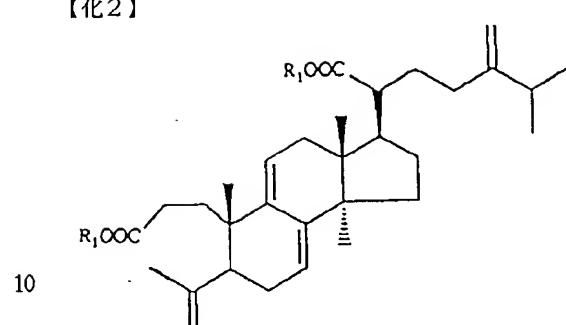
【請求項3】 上記ラノスタン骨格を有するトリテルペン類が、式I-a：

【化4】



*式B：

【化2】

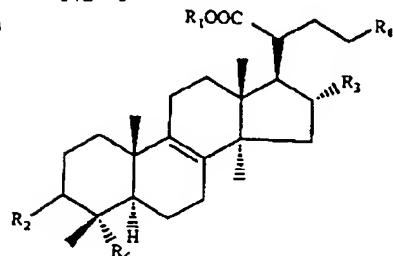


(B)

[式中、R₁は、Hまたは低級アルキルである]で示される3,4-seco-lanostane骨格を有するトリテルペン類の少なくとも1種を有効成分として含む鎮吐薬。

【請求項2】 式Iまたは式II：

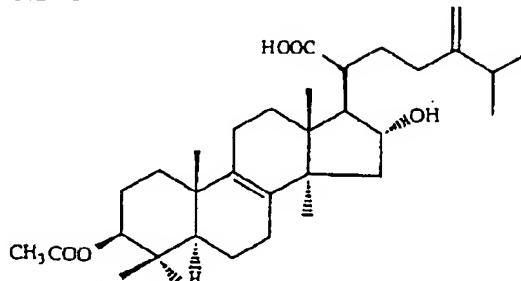
【化3】



(II)

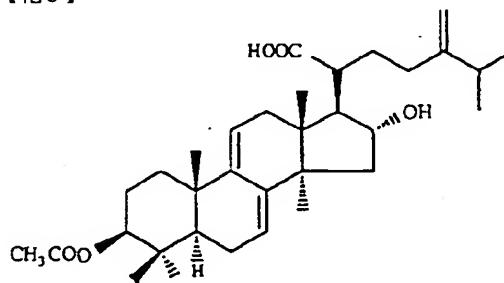
※で示されるポリポレン酸C、式II-a：

30 【化5】

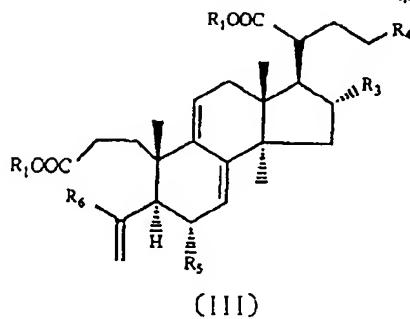


40 で示されるパキマ酸、または式I-b：

【化6】



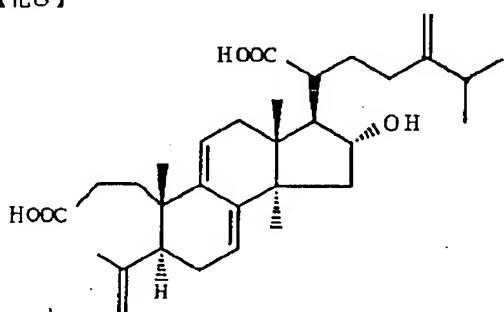
で示されるデヒドロバキマ酸である、請求項1または2記載の鎮吐薬。



[式中、R₁は、H、またはCH₃であり、R₃は、H、OH、またはOCOCH₃であり、R₄は、-C(=CH₂)-C(CH₃)₂-Ra(ここで、Raは、HまたはOHを示す)であり、R₅は、HまたはOHであり、R₆は、CH₃、またはCH₂OHである]で示される3,4-セコラノスタン骨格を有するトリテルペン類の少なくとも1種を有効成分として含む鎮吐薬。

【請求項5】 上記3,4-セコラノスタン骨格を有するトリテルペン類が、式III-a:

【化8】



で示されるポリコ酸Aである、請求項4記載の鎮吐薬。

【発明の詳細な説明】

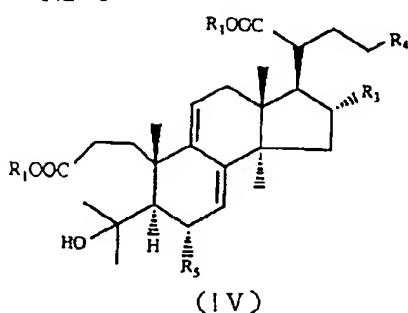
【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ラノスタン骨格または3,4-セコラノスタン骨格を有する化合物の少なくとも一種を有効成分とする、恶心、嘔吐の抑制に有用な鎮吐薬に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】従来、恶心、嘔吐を抑制する治療薬として、例えは、メトクロプラミド、ドンペリドン、ナバジル酸アクラトニウム、マレイイン酸トリメチルなどの化学的合成薬剤が開発され用いられている。しかしながらこれらの治療薬には重篤な副作用を有することが知られており、副作用が少なく恶心、嘔吐を抑制する作用を有する治療薬の開発が望まれていた。そこで、副作用が少なく、かつより緩やかな効果が期待できる生薬中に鎮吐活性を有するも※50

* 【請求項4】 式IIIまたは式IV:
【化7】



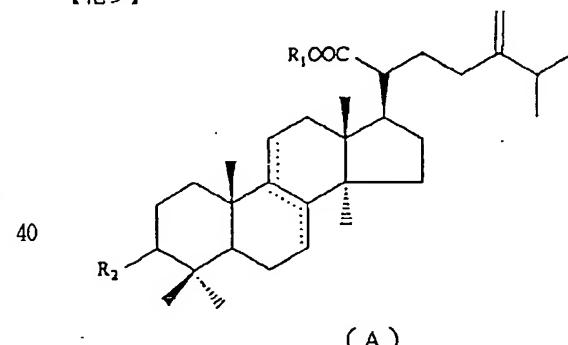
※のを求めて鋭意研究を行った。そして利尿効果を有することが知られている茯苓中の成分が鎮吐活性を有することを見出した。本発明はこのような知見に基づいて完成されたものである。

【0003】日本産および中国産の茯苓は伐採後3~5年を経た枯れたマツの類(Pinus spp.、アカマツなど)の根の周囲に生じるサルノコシカケ科の菌類マツホド(Poria cocos Wolf)を基原とするものである。その他の外国産茯苓はマツ属のほか、ヒマラヤスギ、カシ、ウルシ、その他の植物を宿主とする。不定形の塊状で表面は暗褐色で松脂状、内部は白色または淡紅色である。菌核の外層をはいで乾燥したものが茯苓である。味はやや粘稠性で新鮮なものは特異な微かなにおいがある。漢方では利水、鎮静薬として、利尿異常、心悸亢進などの治療に用いられている。本発明において分離精製された4種の化合物はすでに知られているが、これらの化合物が鎮吐活性を有することはかって報告されていない。

【0004】

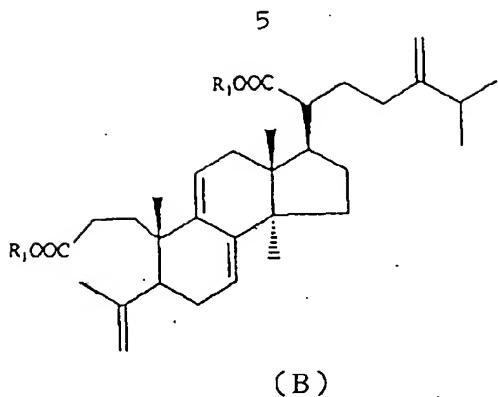
【課題を解決するための手段】本発明の鎮吐薬は下記の化合物を有効成分として含むものである。式A:

【化9】



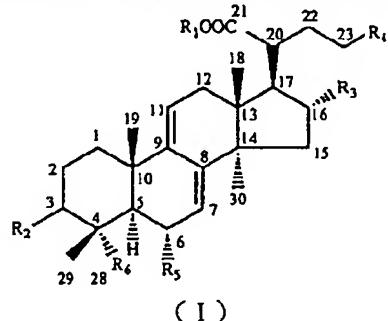
[式中、R₁は、Hまたは低級アルキルであり、R₂は、低級アルカノイルオキシであるか、または環を構成する炭素原子とともにC=Oを形成する]で示されるラノスタン骨格、または、式B:

【化10】



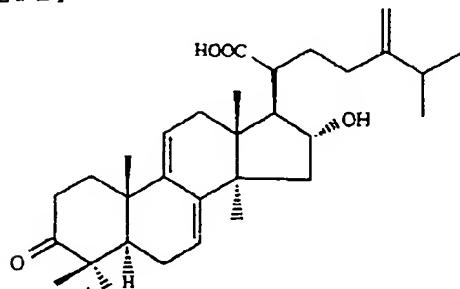
【式中、R₁は、H、または低級アルキルである】で示される3,4-セコラノスタン骨格を有するトリテルペン類。

【0005】これらの式中、炭素原子C₇～C₉～C₁₁に*



【式中、R₁は、H、またはCH₃であり、R₂は、-OCOCH₃であるか、または環を構成する炭素原子とともにC=Oを形成し、R₃およびR₅は、同一または異なって、H、またはOHであり、R₄は、-C(=CH₂)-C(CH₃)₂-Ra (ここで、Raは、HまたはOHを示す)であり、R₆は、CH₃、またはCH₂OHである。】で示されるトリテルペン類であり、好ましくは、例えば、式I-a:

【化12】



で示されるポリポレン酸C、式II-a:

【化13】

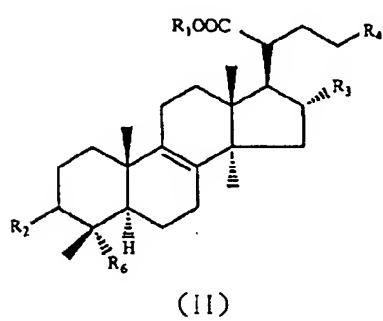
6

* わたる点線はC₇=C₈-C₉=C₁₁またはC₇-C₈=C₉-C₁₁を表す。「低級アルカノイルオキシ」とは、低級アルキルカルボニルオキシともいい、「低級アルキル」とは、飽和の直鎖または分枝状の、炭素原子1～6個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～4個を含む炭化水素残基をいう。例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、テープチルなどが含まれる。

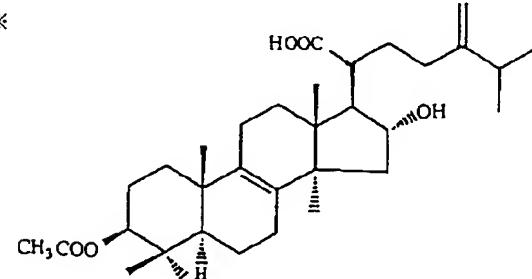
【0006】本発明により、鎮吐薬として、少なくとも式Aにおいて3位の環を形成するC=Oまたは3位の置換基の-OOC-および24位のエキソメチレン、式Bにおいて3位の-CO-および24位のエキソメチレンが必須であることが判明した。

【0007】より具体的には、本発明の化合物にはラノスタン骨格を有する、式Iまたは式II:

【化11】

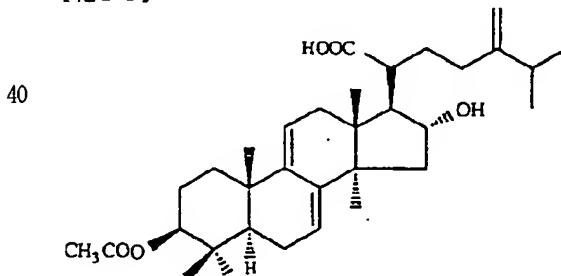


※



で示されるパキマ酸、または式I-b:

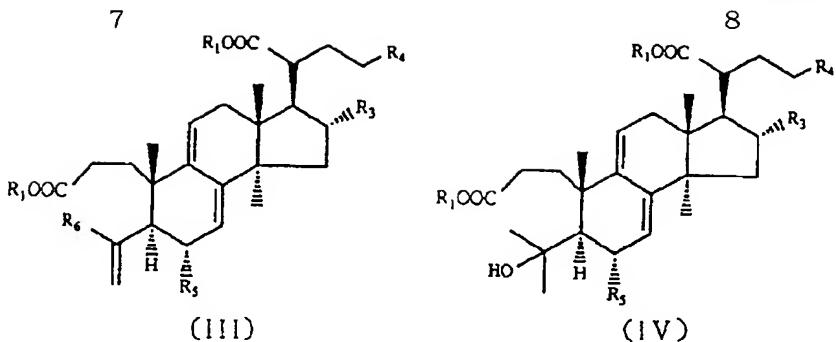
【化14】



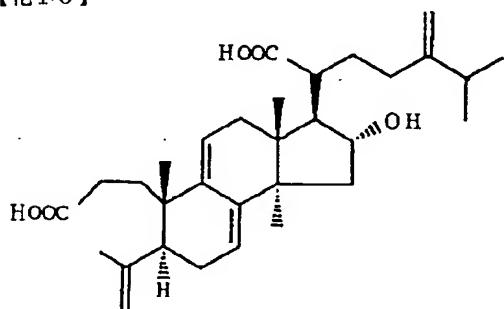
※ で示されるデヒドロパキマ酸を挙げることができる。

【0008】さらに、3,4-セコラノスタン骨格を有する、式IIIまたは式IV:

50 【化15】



[式中、R₁およびR₂は、H、またはCH₃であり、R₃は、H、OH、またはOCOCH₃であり、R₄は、-C(=CH₂)-C(CH₃)₂-Ra(ここで、Raは、HまたはOHを示す)であり、R₅は、H、またはOHであり、R₆は、CH₃、またはCH₂OHである]で示されるトリテルペン類、好ましくは、例えば、式III-a:【化1.6】



*で示されるポリコ酸Aを挙げることができる。

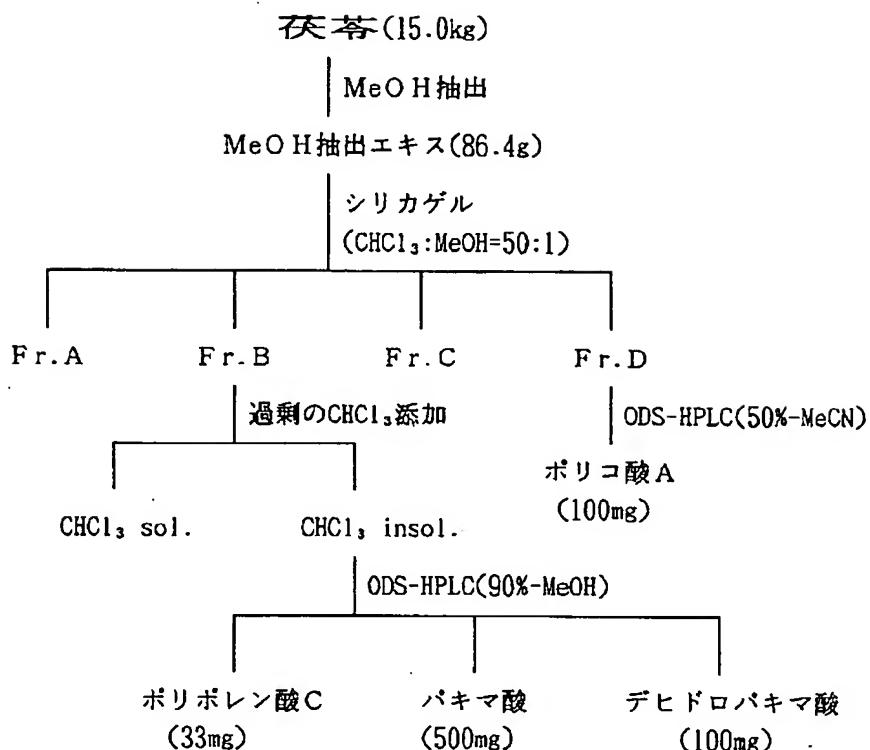
【0009】本発明の化合物は、茯苓から例えれば次のようにして得ることができる。市販の茯苓をメタノール、メタノールなどを含む水性溶媒、または水を用いて、還流しながら1~3時間かけて抽出する。沪過後得られた抽出液を減圧下で溶媒を留去し、得られた抽出エキスを各種のクロマトグラフィーを用いて分離精製する。さらに分離精製して得られた化合物をエステル化またはアシル化する。例えば、ポリポレン酸C、パキマ酸、デヒドロパキマ酸およびポリコ酸Aは次のようにして分離精製する。

【0010】ポリポレン酸C、パキマ酸およびデヒドロパキマ酸の分離精製方法分離精製操作を下記の表1に示す。

【表1】

*

表1



【0011】茯苓 15 kg を水浴上メタノールで還流しながら 1 時間抽出する。沪過後得られた抽出液を減圧下で溶媒留去し、メタノール抽出エキス 86.4 g を得た。ついで、内径 12 cm、長さ 80 cm のシリカゲルカラムクロマトを用い、クロロホルム-メタノール (50:1) で順次溶出し、フラクション A～D を得た。フラクション A は過剰のクロロホルムを加えると沈殿を生じた。この沈殿物を 90% メタノール溶液を溶媒として、逆相系分取高速液体クロマトグラフィーに繰り返し付し、ポリポレン酸 C (33 mg)、パキマ酸 (500 mg) およびデヒドロパキマ酸 (100 mg) を得た。

【0012】ポリコ酸 A の分離精製方法 (表1参照) 上記のフラクション D をさらにシリカゲルカラムクロマト及び逆相系分取高速液体クロマトグラフィーに繰り返し付し、ポリコ酸 A (100 mg) を得た。

【0013】また、必要に応じ、通常用いられる適当な溶媒を使って再結晶による精製を行ってもよい。

【0014】ポリポレン酸 C

無色針状結晶

mp: 273～275°

$[\alpha]_D^{25} +2^\circ$ (ピリジン)

E I-MS (m/z) : 482 (M⁺)

HR-MS: 482.3383 ($C_{31}H_{46}O_4$) (計算値 482.3398)

* UV λ_{max} (MeOH) nm: 242 ($\log \epsilon = 4.25$)
IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3400, 2950, 1710, 1680, 1250

30 【0015】パキマ酸

無色針状結晶

mp: 296～298°

$[\alpha]_D^{25} +6^\circ$ (ピリジン)

E I-MS (m/z) : 528 (M⁺)

HR-MS: 528.3826 ($C_{33}H_{52}O_5$) (計算値 528.3817)

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3500, 2950, 1730, 1680, 1260

【0016】パキマ酸メチル

$C_{34}H_{54}O_5$

NMR (ピリジン-d₅) 21-OCH₃ (δ_H 3.75, δ_C 51.1)

【0017】デヒドロパキマ酸

無色針状晶

mp: 268～270°

$[\alpha]_D^{25} +41^\circ$ (ピリジン)

E I-MS (m/z) : 526 (M⁺), 508, 493, 433

元素分析 計算値 $C_{33}H_{50}O_5$ C: 75.25, H: 9.59 実測値 C: 75.04, H: 9.61

11

UV λ_{max} (EtOH) nm: 242 ($\log \epsilon = 4.10$)IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1730, 1680

【0018】ポリコ酸A

無色針状晶

mp: 248~249°

[α]_D²⁵ +22°(メタノール)EI-MS (m/z): 498 (M⁺), 480, 425,

407

HR-MS: 498.3362 (C₃₁H₄₆O₅) (計算値 498.3345)UV λ_{max} (EtOH) nm: 242 ($\log \epsilon = 4.11$)IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1703, 1640

【0019】ポリコ酸Aジメチル

C₃₃H₅₀O₅NMR (ピリジン-d₅) 21-OCH₃ (δ_H 3.64, δ_C 51.1)3-OCH₃ (δ_H 3.79, δ_C 51.3)

16-O-アセチルポリコ酸A

C₃₅H₅₂O₆NMR (ピリジン-d₅) 16-O-COCH₃ (δ_H 2.04, δ_C 170.4, 22.4)

【0020】本発明の化合物には一般に生体内において遊離形と実質的に同様の生理活性または薬理活性を発揮するもの、例えば、本発明の化合物の誘導体、具体的には、酢酸エステルなどのエステル体、およびK、Naなどの医薬的に許容され得る塩、また付加塩、水和物などは本発明の技術的範囲に含まれるものである。

【0021】鎮吐活性試験

1. 被検溶液の調製

懸濁化剤として1%ツイーン80(東京化成工業株式会社)、さらに溶解補助剤として、5%ジメチルスルホキ*

試料	投与量 (mg/kg体重)	蛙の匹数	表2	
			潜伏時間 (分)	延長率 (%)
対照	-	6	31.0 ± 2.9	
ポリポレン酸C	10	7	47.9 ± 3.7	54.5
	30	7	60.0 ± 7.1*	93.5
対照	-	5	26.6 ± 4.1	
パキマ酸	10	5	27.8 ± 4.7	4.5
	30	5	38.6 ± 5.5	45.1
	50	5	60.6 ± 7.9**	127.8
	100	5	65.6 ± 6.9**	146.6
対照	-	6	21.8 ± 3.0	
デヒドロパキマ酸	10	6	20.0 ± 3.7	-
	30	6	35.7 ± 4.7*	63.8
	50	6	43.0 ± 5.0**	97.2
対照	-	6	21.8 ± 3.1	
ポリコ酸A	10	6	17.0 ± 2.3	-
	30	6	31.7 ± 4.4	49.5
	50	5	44.4 ± 5.0**	109.4

12

*シドを用い、懸濁液または水溶液として10~100mg/kgの濃度に調製した。

【0022】2. 使用動物

体重5~15gの雄性または雌性のトノサマガエル(Rana nigromaculata)、およびアカガエル(Rana japonica)を三協ラボサービス株式会社(東京)より購入し、健康状態の良好なものを使用した。

【0023】3. 硫酸銅誘発性嘔吐抑制活性試験

正常なカエルを1群5~10匹に分け、飼料としてイトミミズ2.0ml/10g体重を強制投与し、3時間後に被検溶液を10mg~500mg/kg体重の濃度でリンパ腔内投与し、物理的刺激を避け、30分間静置させた。その後、催吐剤として末梢性催吐剤の硫酸銅(無水)(ヨツハタ化学工業株式会社)150mg/kg体重を経口投与し、胃内容物の吐出を誘発させ、対照群に対する被検溶液投与群の嘔吐潜伏期間(初回嘔吐までに要する時間)の延長を指標として活性を判定した。

【0024】4. 嘔吐潜伏時間の表現方法

a) 嘔吐潜伏時間(emetic latency)

各群の平均値±標準誤差(平均値±S.E.)で示し、t検定により有意差検定を行った。

b) 嘔吐潜伏時間の延長率(prolongation)

[(被検溶液投与群の平均嘔吐潜伏時間/対照群の平均嘔吐潜伏時間)-1] × 100 (%)

c) 異常値の棄却

各投与群における異常値の棄却は、スミレノフ法による棄却検定に従った。

【0025】5. 結果

鎮吐活性試験の結果を表2に示す。

【表2】

13

	100	5	45.2±7.7*	113.2
対照	—	5	22.8±4.6	
茯苓MeOH抽出物	500	5	48.6±13.6	113.2

数値は平均値±S.E.

対照値と著しく異なる: *p<0.05, **p<0.01

【0026】評価

4種の被検化合物のうち、ポリポレン酸Cは最小投与量である10mg/kg体重において、50%以上の制吐潜伏時間の延長を示した。残りの3種の化合物は30mg/kg体重の投与量で約50%の延長率を示した。ポリポレン酸Cは、30mg/kg体重で、また残りの3種の被検化合物は、50mg/kg体重で約2倍の顕著な鎮吐活性を示した。

【0027】茯苓単離化合物およびその誘導体の構造と鎮吐活性の相関関係

茯苓から単離されたトリテルペンおよびその誘導体の鎮吐活性について、その構造活性相関性を検討した。以下では、茯苓エキスの鎮吐活性を示し、硫酸銅誘発の嘔吐発現時間の延長を起こす数種のトリテルペンの活性を試験した。

【0028】1. 被検化合物

パキマ酸(1)、デヒドロパキマ酸(2)、3β-ヒドロキシラノスター-7,9(11),24-トリエン-21-オイックアシッド(3)、ツムロ酸(5)、デヒドロエブリコ酸(6)、デヒドロエブリコン酸(7)、3-エピデヒドロツムロ酸(9)、ポリコ酸A(10)、ポリコ酸B(11)およびポリコ酸D(12)は上記の分離方法と同様にして茯苓あるいは茯苓皮より単離したもの用いた。パキマ酸メチル(1a)およびポリコ酸Aジメチル(10a)は、1と10をそれぞれジアゾメタン処理により製造した。3-O-アセチル-16α-ヒドロキシトラメテノール酸(4)およびポリポレン酸C*

表3

試料	投与量 (mg/kg体重)	蛙の匹数	潜伏時間 (分)	延長率 (%)
対照	—	6	25.7±4.1	—
パキマ酸	10	6	25.3±5.1	—
II-a	30	6	35.0±5.3	36.2
(1)	50	5	55.4±7.8**	115.6
	100	6	53.3±6.0**	107.4
対照	—	5	35.2±4.5	—
パキマ酸メチル	10	5	27.4±3.9	—
(1a)	30	5	42.0±6.7	19.3
	50	6	52.7±5.0*	49.7
	100	5	40.0±3.2	13.6
対照	—	6	21.8±3.0	—
デヒドロパキマ酸	10	6	20.0±3.7	—
I-b	30	6	35.7±4.7*	63.8
(2)	50	6	43.0±5.0**	97.2
	100	5	26.2±5.4	20.2

* (8) はそれぞれのN-フタルイミドメチルエステル(4b, 8b)の加水分解により調製した(田井孝明ら, *Phytochemistry* 30, 2796-2797(1991), 31, 2548-2549(1992), 32, 1239-1244(1993)および*Phytochemistry* 投稿中の論文参照)。16-O-アセチルポリコ酸A(10c)は10のアセチル化により調製した。

【0029】2. 試薬

催吐薬は硫酸銅(和光純薬社製)を使用し、クロロプロマジン、メトクロプラミドおよびp-アミノ安息香酸エチルを陽性対照薬として使用した。

【0030】3. 使用動物

トノサマガエル(*Rana nigromaculata*)は雄雌混合体重6-16gを三共ラボサービスより購入し用いた。

20 【0031】4. 鎮吐試験方法

硫酸銅誘発性嘔吐抑制試験法を用いた。カエルを一群6匹ずつに分け、試験開始3時間前にイトミミズを強制摂食させた。試料溶液は5%ツイーン80に懸濁させ、10~100mg/kg体重でリンバ腔投与し30分間安静にした。その後、催吐剤の硫酸銅を経口投与し、80分後まで最初の嘔吐発現時間を測定した。結果はコントロールに対する嘔吐発現時間の延長で判断した。嘔吐発現時間の延長は被験試料の鎮吐活性を示している。

【0032】5. 結果

30 全てのデータは±S.E.で示した。統計学的な有意差はt-検定で行った。鎮吐活性試験の結果を表3に示す。

【表3】

対照	—	6	24.0±5.7	
3 β -ヒドロキシ-7,9-(11),24-トリエン-21-	10	6	23.5±3.9	—
オイク・アシド	30	6	20.0±2.9	—
(3)	50	6	21.5±4.9	—
	100	5	20.8±3.8	—
対照	—	6	27.2±3.4	
3-0-アセチル-16 α -ヒドロキシ-	10	5	37.0±4.2	36.0
トライノール酸	30	4	16.8±6.1	—
	50	5	32.4±10.1	19.1
(4)	100	5	26.6±5.0	
対照	—	6	16.2±4.6	
3-0-アセチル-16 α -ヒドロキシ-	10	4	8.8±3.1	—
トライノール酸	30	5	28.4±8.6	75.3
アカルイミドメチルエスチル	50	5	10.4±3.2	—
(4 b)	100	5	19.4±2.4	—
対照	—	6	32.3±4.5	
ツムロ酸	10	6	22.8±3.7	—
(5)	30	6	29.5±3.5	—
	50	5	36.4±1.5	12.7
	100	6	33.0±3.4	2.2
対照	—	5	29.8±4.3	
デヒドロ	10	5	31.0±6.7	4.0
エブリコ酸	30	5	39.8±4.4	33.6
(6)	50	5	26.2±6.8	—
対照	—	6	22.7±3.4	
デヒドロエブリ	10	6	27.0±3.7	18.9
コン酸	30	6	36.7±2.3*	61.7
(7)	50	6	26.2±2.0	15.4
対照	—	5	34.4±3.6	
ポリボレン酸C	10	5	41.0±3.4	39.2
I-a	30	5	68.2±5.8**	98.3
(8)	50	5	50.4±5.8	46.5
	100	5	37.6±4.1	9.3
対照	—	5	38.8±4.8	
ポリボレン酸C	10	5	33.0±6.3	—
アカルイミドメチルエスチル	30	5	29.8±6.1	—
(8 b)	50	5	45.4±9.5	17.0
	100	5	59.2±10.7	52.6
対照	—	5	23.2±4.3	
3-エピデヒドロ	10	5	30.0±6.5	29.3
ツムロ酸	30	5	15.6±4.3	—
(9)	50	5	13.8±5.2	—
	100	5	23.8±3.4	—
対照	—	6	21.8±3.1	
ポリコ酸A	10	6	17.0±2.3	—
III-a	30	6	31.7±4.4	49.5
(10)	50	5	44.4±5.0**	109.4
	100	6	45.2±7.7*	112.3
対照	—	5	15.4±3.7	
ポリコ酸Aジメチル	10	5	38.6±4.3*	120.6

17		18	
(10a)	30	3	23.7±6.9
	50	5	21.8±8.1
	100	5	11.8±2.2
対照	—	5	22.8±5.8
16-O-アセチル	10	5	30.2±2.8
ポリコ酸A	30	5	20.6±4.9
(10c)	50	5	52.7±11.0
	100	5	70.2±7.0
対照	—	5	25.8±6.1
ポリコ酸B	10	5	15.4±4.2
(11)	30	6	19.0±4.5
	50	6	31.8±4.5
	100	5	4.2±0.5
対照	—	6	35.5±3.3
ポリコ酸D	10	6	21.3±4.1
(12)	30	6	41.2±4.8
	50	6	25.0±3.9
	100	6	18.3±4.9
対照	—	6	35.7±4.3
クロルプロマジン	10	6	38.7±3.4
	30	7	63.0±6.8**
	50	6	66.2±6.1**
	100	7	72.6±4.2
対照	—	7	30.9±4.1
メトクロプラミド	10	7	34.7±4.1
	30	7	39.7±5.6
	50	6	59.8±4.5***
	100	7	80.0±0.0(嘔吐なしで158.9
%)			
対照	—	7	38.1±4.1
p-アミノ安息香酸	10	7	36.9±4.4
エチル	30	7	53.0±3.9
(経口投与)	50	7	66.7±3.9***
対照	—	7	27.3±3.9
p-アミノ安息香酸	10	7	37.4±3.5
エチル	30	7	46.7±3.9**
(リンパ腔に投与)	50	7	56.1±3.9***

*: P<0.05, **: P<0.01

***: P<0.001

【0033】評価と考察

茯苓から単離されたトリテルペンおよびその誘導体の鎮吐活性について、その構造活性相関を検討した。茯苓のメタノールエキスを500mg/kg体重投与した時、113.2%の嘔吐発現の時間の延長があった。化合物1は茯苓中にもっとも多く含まれる成分で、そのメチルエステル1aも鎮吐活性を示したが、化合物3、4、4b、5および6には顕著な活性がなかった。この結果よりそれらトリテルペンの3位のアセチル基と24位のエキソメチレン基が鎮吐活性に必須であると考えられる。化合物7と8は活性があったが、8bは顕著な活性がなかった。21位のフタルイミドメチルエステルは鎮吐活

*性を減少させており、16位の水酸基の存在は活性には関与していないと見られる。化合物8は投与量を多くすると(50~100mg/kg体重)、鎮吐活性は減少し予想外の結果であった。3,4-セコ体のトリテルペンに関して側鎖にエキソメチレン基をもっている化合物10および10aは活性があったが、10aの投与量を上げると(>30mg/kg体重)予想外の活性の低下をみた。活性のあつたいくつかのトリテルペンは陽性対照薬のクロロプロマジン、メトクロプラミドおよびp-アミノ安息香酸エチルと同程度の効果があった。

【0034】以上の結果より側鎖の24位にエキソメチレン基を持ついくつかのトリテルペンはカエルに対して

鎮吐活性があった。シャルマらは側鎖の24位にエキソメチレン基を持つトリテルペンに家蟲のある種を殺す活性があることを報告している (Sharma, M. C. et al., *Phytochemistry* 37, 201-203 (1994))。このことからも側鎖の24位のエキソメチレン基は生理活性に対し何らかの効果を表す因子であると考えられる。

【0035】急性毒性試験

(1) 試験化合物

ポリコ酸A

(2) 試験方法

BD F₁雄性マウス4週令5匹を使用し、1週間動物室で馴化後、18時間絶食させてから試験化合物を0.5%CMC-Naに懸濁して、経口投与した（投与容量0.1ml/10g体重）。

(3) 試験結果

1000mg/kgの用量をマウスに投与しても死亡例はなく、異常症状も認められなかった。従って、試験化合物の毒性は低い。

【0036】有効な投与量および投与方法

本発明の化合物はそのまま、あるいは慣用の製剤担体と共に動物および人に投与することができる。投与形態としては、特に限定がなく、必要に応じ適宜選択して使用することができ、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤等の経口剤、注射剤、経皮吸収剤、坐剤等の非経口剤が挙げられる。

【0037】経口剤としての有効量は、患者の年令、体重、疾患の程度により異なるが、通常成人で本発明の化合物の重量として10mg～500mgを、1日数回に分けての服用が適当である。経口剤は、例えば、乳糖、デンプン、ショ糖、ブドウ糖、マンニトール、コンスタチ、無機塩類等を用いて常法に従って製造される。

【0038】これらの製剤には、必要に応じて上記の賦形剤の他に、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動化剤、矯味剤、着色剤、香料等を使用することができる。

【0039】例えば、結合剤にはデンプン、デキストリン、アラビアゴム末、ヒドロキシプロピル starch、結晶セルロース、エチルセルロース、メチルセルロース、カルボキシメチセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドンを挙げることができる。

【0040】崩壊剤としては、デンプン、ヒドロキシプロピル starch、カルボキシメチセルロースナトリウム、カルボキシメチセルロースカルシウム、カルボキシメチセルロース、低置換ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドンがある。

【0041】界面活性剤としては、ラウリル硫酸ナトリウム、大豆レシチン、卵黄レシチン、ショ糖脂肪酸エステル、ポリソルベート80が挙げられる。

【0042】滑沢剤の例には、タルク、ロウ類、水素添

加植物油、ショ糖脂肪酸エステル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸アルミニウムがある。

【0043】流動化剤としては、軽質無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウムゲル、合成ケイ酸アルミニウム、ケイ酸マグネシウムを挙げることができる。

【0044】また、本発明の化合物は、懸濁液、乳化剤、シロップ剤、エリキシル剤としても投与することができ、これらの剤形には、矯味矯臭剤、着色剤が含まれていてもよい。

【0045】非経口剤として鎮吐効果を発揮するためには、患者の年齢、体重、疾患の程度により異なるが、通常成人で本発明の化合物の重量として1日0.1mg～5mgまでの皮下注射、筋肉注射が適当と思われる。

【0046】この非経口剤は常法に従って製造され、希釈剤として一般に注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、注射用植物油、ゴマ油、落花生油、大豆油、トウモロコシ油、プロピレンジコール、ポリエチレンジコール等を用いることができる。さらに必要に応じて、殺菌剤、防腐剤、安定剤等を加えてもよい。

【0047】その他の非経口剤としては、外用液剤、ゲル状軟膏等の経皮吸収剤、直腸内投与のための坐剤等が挙げられ、常法に従って製造される。

【0048】次に、本発明の製剤例を示して、本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれにより何ら制限されるものではない。

【0049】実施例1

①ポリボレン酸C	10g
②乳糖	62g
③デンプン	20g
④カルボキシメチセルロースカルシウム	5g
⑤軽質無水ケイ酸	2g
⑥ステアリン酸マグネシウム	1g
計	100g

上記の処方に従って①～⑥を均一に混合し、打錠機にて圧縮成形して一錠200mgの錠剤を得た。この錠剤一錠には、ポリボレン酸Cが20mg含まれており、成人一日3～6錠を数回に分けて服用する。

【0050】実施例2

①ポリコ酸A	10g
②結晶セルロース	30g
③乳糖	52g
④カルボキシメチセルロースカルシウム	5g
⑤軽質無水ケイ酸	2g
⑥ステアリン酸マグネシウム	1g
計	100g

上記の処方に従って①、③、⑤および⑥の一部を均一に混合し、成形圧縮した後、粉碎し、②、④および⑥の残量を加えて混合し、打錠機にて圧縮成形して一錠200mgの錠剤を得た。この錠剤一錠には、ポリコ酸Aが2

21

0mg含まれており、成人一日3~6錠を数回に分けて服用する。

【0051】実施例3

①バキマ酸	2g
②デキストリン	71g
③結晶セルロース	20g
④7%ヒドロキシプロピルセルロース溶液	20g
計	113g

上記の処方に従って①~④を均一に混合し、ねつ和した。押し出し造粒機により造粒後、乾燥し、12号のふるいを通して顆粒剤を得た。この顆粒剤1gにはバキマ酸が20mg含まれており、成人1日3~6gを数回に分けて服用する。

【0052】実施例4

①ヒドロキシ酸	2g
②デキストリン	73g
③結晶セルロース	20g
④ヒドロキシ酸	4g
⑤テアリン酸グリコム	1g
計	100g

上記の処方に従って①~⑤を均一に混合し、圧縮成形機で圧縮成形後、破碎機で碎き、30号のふるいを通して細粒剤を得た。この細粒剤1gにはデヒドロバキマ酸が20mg含まれており、成人1日3~6gを数回に分けて服用する。

【0053】実施例5

①ヒドロキシ酸	9g
②シタチ	77g
③結晶セルロース	10g
④ヒドロキシ酸	3g
⑤テアリン酸グリコム	1g
計	100g

上記の処方に従って、①~⑤を均一に混合し、220mgを2号カプセルに充填した。このカプセル剤1粒には、ポリボレン酸Cが20mg含まれており、成人1日

22

3~6粒を数回に分けて服用する。

【0054】実施例6

①ヒドロキシ酸	1g
②蒸留水	92g
③リード油	5g
④豆乳質	2g
計	100g

上記の処方に従って①を③と④に溶解し、これに②を加えて乳化し、注射剤を得た。

10 【0055】実施例7

①ヒドロキシ酸	1g
②オピングコール	20g
③タール	30g
④アルメロースナトリウム	1g
⑤蒸留水	48g
計	100g

上記の処方に従って①に②と③を加えて混合する。これに別に④を⑤の1部で膨潤させたものに加え均一に混和した後、攪拌下にさらに⑤の残部を加えて、十分に練り

20 会わせてゲル状軟膏剤を得た。

【0056】実施例8

①ヒドロキシ酸	1g
②油脂	97g
③豆乳質	2g
計	100g

上記の処方に従って①を③に加えて溶解分散させ、これに②を加えて溶融させてから、十分に練り合わせる。さらに金型に充填し、冷却させて1個約1.8gの坐剤を得た。

30

PTO 07-4944

CC=JP DATE=19960514 KIND=A
PN=08119864

ANTIEMETIC AGENTS
[Chintoyaku]

Kunio Takahashi, et al.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
Washington, D.C. June 2007

Translated by: FLS, Inc.

PUBLICATION COUNTRY (19) : JP

DOCUMENT NUMBER (11) : 08119864

DOCUMENT KIND (12) : A

(13) : PUBLISHED UNEXAMINED
APPLICATION (Kokai)

PUBLICATION DATE (43) : 19960514

PUBLICATION DATE (45) :

APPLICATION NUMBER (21) : 07159228

APPLICATION DATE (22) : 19950626

INTERNATIONAL CLASSIFICATION (51) : A61K 31/575, 31/19, 31/215;
C07J 9/00

PRIORITY COUNTRY (33) : JP

PRIORITY NUMBER (31) : 06210039

PRIORITY DATE (32) : 19940902

INVENTORS (72) : TAKAHASHI, KUNIO; TAI,
TAKAAKI

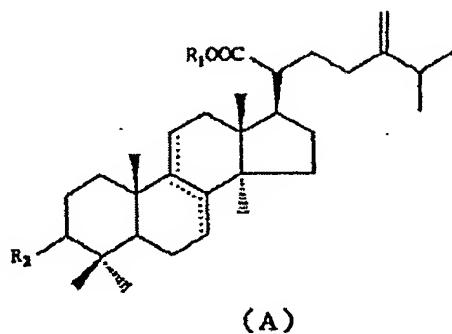
APPLICANT (71) : KOTARO KANPO SEIYAKU KK.

TITLE (54) : ANTIEMETIC AGENTS

FOREIGN TITLE [54A] : CHINTOYAKU

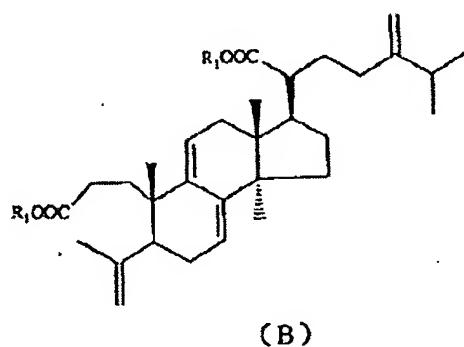
[Claim 1] An antiemetic agent containing, as the active ingredient, a minimum of one kind of triterpene that has a lanostane skeleton represented by Formula A:

[Chem. 1]



(wherein R_1 denotes H or lower alkyl, and R_2 is lower alkanoyloxy or forms C=O together with a carbon atom that constitutes a ring) or a 3,4-secolanostane skeleton represented by Formula B:

[Chem. 2]

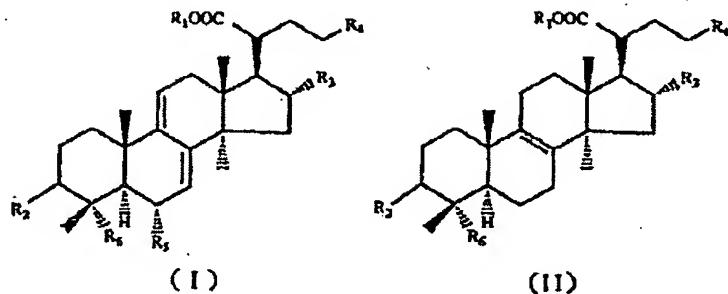


(wherein R_1 denotes H or lower alkyl).

* Numbers in the margin indicate pagination in the foreign text.

[Claim 2] The antiemetic agent stated in Claim 1 that contains, as the active ingredient, a minimum of one kind of triterpene that has a lanostane skeleton represented by Formula I or Formula II:

[Chem. 3]



[wherein R_1 denotes H or CH_3 ;

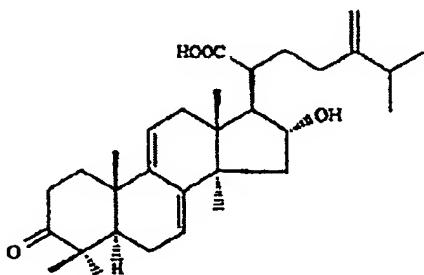
R_2 is $-OCOCH_3$ or forms C=O together with a carbon atom that constitutes a ring;

R_3 and R_5 denote H or OH, optionally being the same or different from each other;

R_4 is $-C(=CH_2)-CH(CH_3)_2-Ra$ (wherein Ra indicates H or OH); and R_6 denotes CH_3 or CH_2OH].

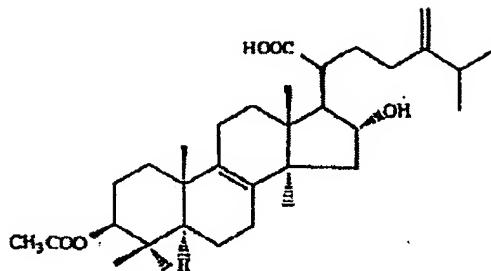
[Claim 3] The antiemetic agent stated in Claim 1 or 2, wherein the aforesaid triterpene having a lanostane skeleton is polyporenic acid C represented by Formula I-a:

[Chem. 4]



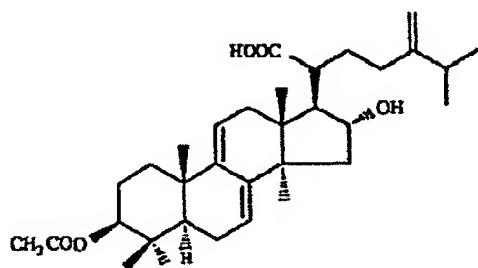
pachymic acid represented by Formula II-a:

[Chem. 5]



or dehydropachymic acid represented by Formula I-b:

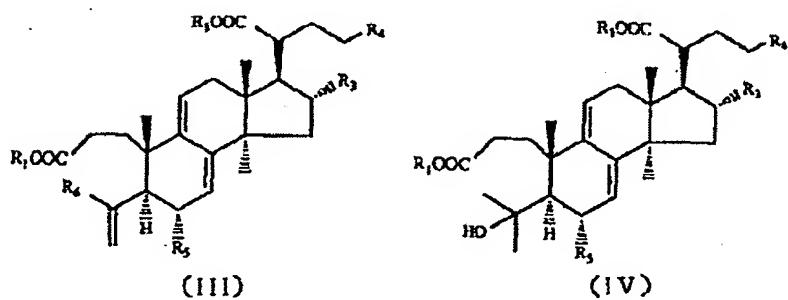
[Chem. 6]



/3

[Claim 4] An antiemetic agent that contains, as the active ingredient, a minimum of one kind of triterpene that has a 3,4-secolanostane skeleton represented by Formula III or Formula IV:

[Chem. 7]



[wherein R₁ denotes H or CH₃;

R₃ is H, OH, or OCOCH₃;

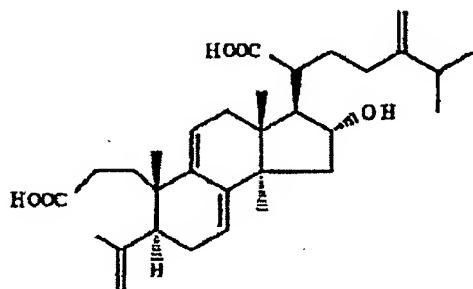
R₄ is -C(=CH₂)-C(CH₃)₂-Ra (wherein Ra indicates H or OH);

R₅ denotes H or OH; and

R₆ denotes CH₃ or CH₂OH].

[Claim 5] The antiemetic agent stated in Claim 4, wherein the aforesaid triterpene having a 3,4-secolanostane skeleton is poricoic acid A represented by Formula III-a:

[Chem. 8]



[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of Industrial Application] The present invention pertains to antiemetic agents that have, as the active ingredient, a minimum of one kind of compound having a lanostane skeleton or 3,4-secolanostane skeleton and that are useful for suppressing nausea and vomiting.

[0002]

[Prior Art and Problems that the Invention Intends to Solve] As curative agents for suppressing nausea and vomiting, chemically synthesized drugs, such as metoclopramide, domperidone, aclatonium napadisilate, trimeptine maleate, have been developed and put in use. These curative agents, however, are known to cause serious side effects, and there has been a demand for the development of curative

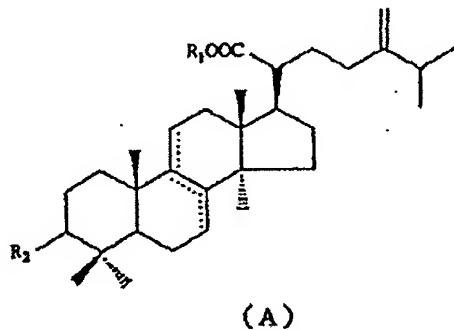
agents that have the effect of suppressing nausea and vomiting with few side effects. Accordingly, the present inventors conducted extensive research to find agents having an antiemetic activity among crude drugs, which usually have few side effects and gentler effects. As a result, they found that the components in hoelen, which is known to have a diuretic effect, have an antiemetic activity. The present invention was achieved based on this finding.

[0003] The hoelen produced in Japan and China is derived from fungi *Poria cocos* Wolf of the Polyporaceae that appears around the roots of pine trees (*Pinus spp.*, Japanese red pine and the like) that have been cut down and dead for three to five years. The hoelen produced in other foreign countries uses cedars, oaks, lacquer trees, and other plants as its host, besides *Pinus* plants. It is an irregular mass, and its surface is dark brown and looks like a pine skin, while the interior is white or light pink. Hoelen is obtained by peeling the exterior layer of the sclerotia and drying it. It tastes somewhat viscid and has a unique faint odor when it is fresh. In Chinese herbal medicine, it is used as a diuretic or sedative for treating diuretic disorders, cardiac palpitation, and the like. Four kinds of compounds that are isolated and purified in the present invention are already known, but there has been no report that these compounds possess an antiemetic activity.

[0004]

[Means for Solving the Problems] The antiemetic agents of the present invention contain the following compounds as the active ingredient. Triterpenes that have a lanostane skeleton represented by Formula A:

[Chem. 9]

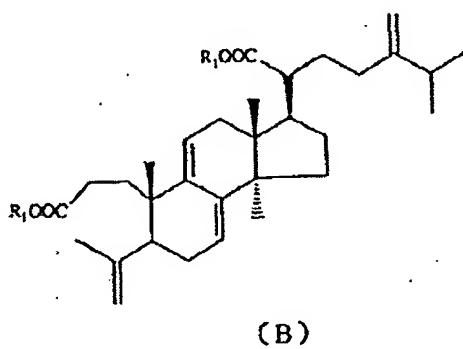


(A)

(wherein R_1 denotes H or lower alkyl, and R_2 is lower alkanoyloxy or forms C=O together with a carbon atom that constitutes a ring) or a 3,4-secolanostane skeleton represented by Formula B:

[Chem. 10]

/4



(B)

(wherein R_1 denotes H or lower alkyl).

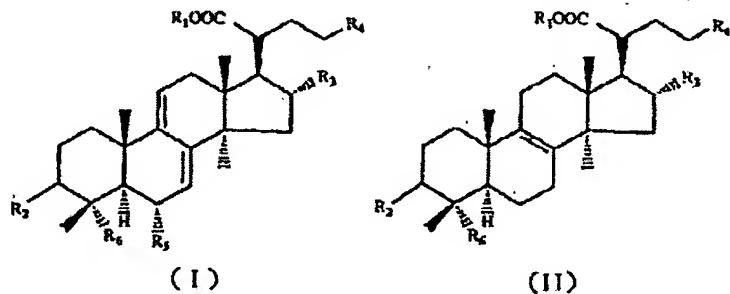
[0005] In these formulas, the dotted lines that are drawn between carbon atoms $C_7-C_9-C_{11}$ represent either $C_7=C_8-C_9=C_{11}$ or $C_7-C_8=C_9-C_{11}$. The term "lower alkanoyloxy" is also referred to as lower alkyl

carbonyloxy, and the term "lower alkyl" means a linear or branched saturated hydrocarbon moiety that contains 1 to 6, preferably 1 to 5, better yet, 1 to 4, carbon atoms. It includes, for example, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, t-butyl, and the like.

[0006] The present inventors learned that, as an antiemetic agent, it is essential for Formula A to have C=O that forms the ring in position 3 or a substituent -OCO- in position 3 and exomethylene in position 24 and for Formula B to have -CO in position 3 and exomethylene in position 24.

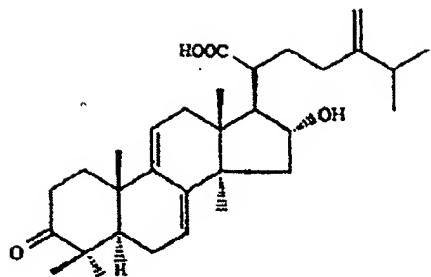
[0007] More specifically, the compounds of the present invention are triterpenes represented by Formula I or Formula II:

[Chem. 11]



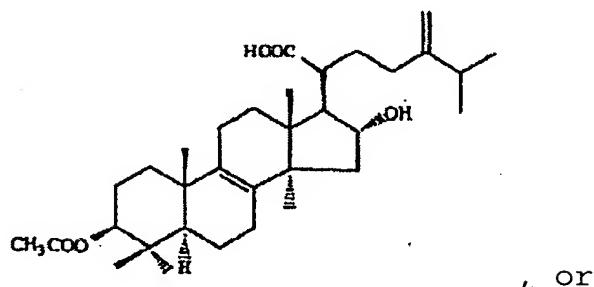
[wherein R₁ denotes H or CH₃; R₂ is -OCOCH₃ or forms C=O together with a carbon atom that constitutes a ring; R₃ and R₅ denote H or OH, optionally being the same or different from each other; R₄ is -C(=CH₂)-CH(CH₃)₂-Ra (wherein Ra indicates H or OH); and R₆ denotes CH₃ or CH₂OH], and some preferable examples include polyporenic acid C represented by Formula Ia:

[Chem. 12]



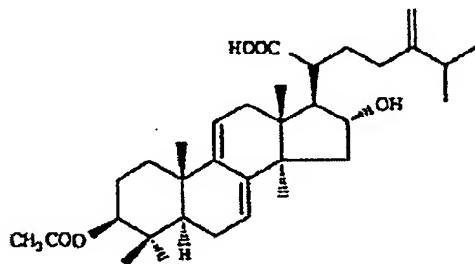
pachymic acid represented by Formula II-a:

[Chem. 13]



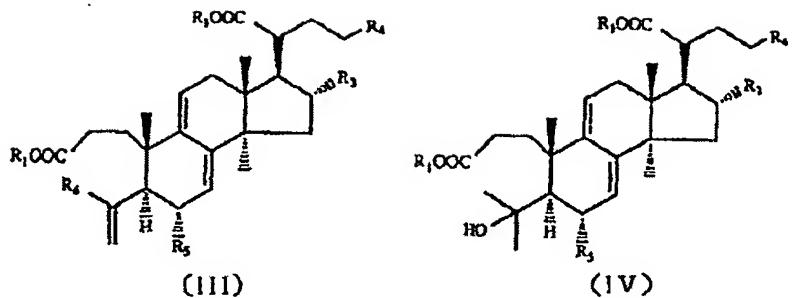
dehydropachymic acid represented by Formula I-b:

[Chem. 14]



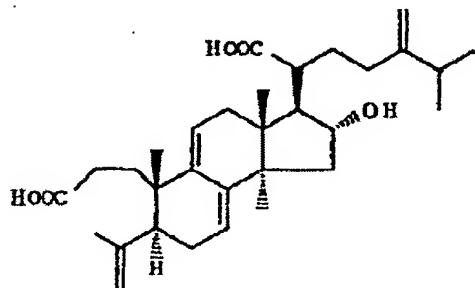
[0008] Further, the compounds of the present invention include triterpenes that have a 3,4-secolanostane skeleton and that are represented by Formula III or Formula IV:

[Chem. 15]



[wherein R_1 and R_2 denote H or CH_3 ; R_3 is H, OH, or $OCOCH_3$; R_4 is -
 $C(=CH_2)-C(CH_3)_2-Ra$ (wherein Ra indicates H or OH); R_5 denotes H or OH;
and R_6 denotes CH_3 or CH_2OH], preferable among which is poricoic acid A
represented by Formula III-a:

[Chem. 16]



[0009] The compounds of the present invention can be obtained from hoelen as follows. Commercially available hoelen is extracted with methanol, with an aqueous solvent containing methanol or the like, or with water for 1 to 3 hours under reflux. From the extract solution obtained after filtration, the solvent was distilled away under reduced pressure, and the obtained extract is isolated and purified using various kinds of chromatography. The compounds obtained by the isolation and purification are further esterified or acylated.

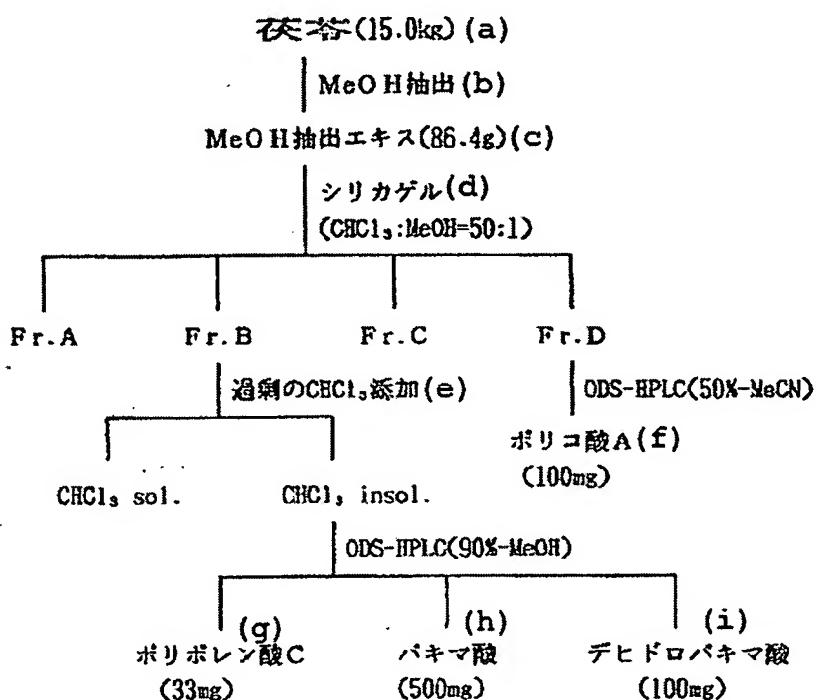
Polyporenic acid C, pachymic acid, dehydropachymic acid, and poricoic acid A, for example, are isolated and purified as follows.

[0010] Table 1 in the following illustrates the isolation and purification method and isolation and purification procedures for polyporenic acid C, pachymic acid, and dehydropachymic acid.

[Table 1]

/6

TABLE 1



Key: a) hoelen; b) MeOH extraction; c) MeOH-extracted extract; d) silica gel; e) add an excess amount of CHCl₃; f) poricoic acid A; g) polyporenic acid C; h) pachymic acid; i) dehydropachymic acid.

[0011] Fifteen kilograms of hoelen was extracted with methanol under reflux for 1 hour over a water bath. From the extract solution obtained after filtration, the solvent was distilled away under reduced pressure, thereby obtaining 86.4 g of a methanol-extracted extract. Thereafter, using a silica gel chromatogram column having an

inner diameter of 12 cm and a length of 80 cm, the extract was eluted with chloroform-methanol (50 : 1), thereby obtaining fractions A through D. Fraction A [sic] formed a precipitate when an excess amount of chloroform was added to it. This precipitate was subjected to reverse-phase preparative high-performance liquid chromatography repeatedly, using a 90 % methanol as the solvent, thereby obtaining polyporenic acid C (33 mg), pachymic acid (500 mg), and dehydropachymic acid (100 mg).

[0012] Isolation and purification method for poricoic acid A (see Table 1)

The aforesaid fraction D was further subjected to silica gel column chromatography and reverse-phase preparative high-performance liquid chromatography repeatedly, thereby obtaining poricoic acid A (100 mg).

[0013] If necessary, the fraction may be subjected to purification by recrystallization with the use of an appropriate solvent that is conventionally used.

[0014] Polyporenic acid C

Colorless acicular crystal

mp: 273 to 275 °C

$[\alpha]_D^{25} + 2^\circ$ (pyridine)

ESI-MS (m/z): 482 (M^+)

HR-MS: 482.3383 ($C_{31}H_{46}O_4$) (calculated value: 482.3398)

UV λ_{max} (MeOH) nm: 242 ($\log \epsilon = 4.25$)

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3400, 2950, 1710, 1680, 1250

[0015] Pachymic acid

Colorless acicular crystal

mp: 296 to 298 °C

$[\alpha]_D^{25}$ + 6° (pyridine)

EI-MS (m/z) : 528 (M^+)

HR-MS: 528.3826 ($C_{33}H_{52}O_5$) (calculated value: 528.3817)

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3500, 2950, 1730, 1680, 1260

[0016] Methyl pachymate

$C_{34}H_{54}O_5$

NMR (pyridine-d₅) 21-OCH₃ (δ_H 3.75, δ_C 51.1)

[0017] Dehydropachymic acid

Colorless acicular crystal

mp: 268 to 270 °C

$[\alpha]_D^{25}$ + 41° (pyridine)

EI-MS (m/z) : 526 (M^+), 508, 493, 433

Elemental analysis calculated values $C_{33}H_{50}O_5$ C; 75.25, H; 9.59

Actual values C; 75.04, H; 9.61

UV λ_{max} (EtOH) nm: 242 ($\log \epsilon$ = 4.10)

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1730, 1680

[0018] Poricoic acid A

Colorless acicular crystal

mp: 248 to 249 °C

$[\alpha]_D^{25}$ + 22° (methanol)

EI-MS (m/z) : 498 (M^+), 480, 425, 407

/7

HR-MS: 498.3362 (C₃₁H₄₆O₅) (calculated value: 498.3345)

UV λ_{max} (EtOH) nm: 242 ($\log \epsilon = 4.11$)

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1703, 1640

[0019] Dimethyl poricoate A

C₃₃H₅₀O₅

NMR (pyridine-d₅) 21-OCH₃ (δ_{H} 3.64, δ_{C} 51.1)

3-OCH₃ (δ_{H} 3.79, δ_{C} 51.3)

16-O-acetyl poricoic acid A

C₃₅H₅₂O₆

NMR (pyridine-d₅) 16-OCOCH₃ (δ_{H} 2.04, δ_{C} 170.4, 22.4)

[0020] As the compounds of the present invention, the present invention generally encompasses, within its technical scope, substances that exhibit substantially the same physiological activities or pharmacological activities as those of free-form compounds within the living body--for instance, derivatives of the compounds of the present invention, more specifically, esters, such as acetic acid esters and so forth, and medically acceptable salts or addition salts of K, Na, and the like, hydrates, and so forth.

[0021] Antiemetic activity test

1. Preparation of test solution

Using 1 % Tween 80 (a product of Tokyo Kasei Kogyo Co.) as the suspending agent and 5 % dimethyl sulfoxide as the solubilizing agent, a test solution was prepared in the form of a suspension or an aqueous solution in a concentration of from 10 to 100 mg/kg.

[0022] 2. Test animals

Male and female black-spotted pond frogs (*Rana nigromaculata*) and ranids (*Rana japonica*) that weighed from 5 to 15 g were purchased from Sankyo Lab Service Co. (Tokyo), and those that were in a good health condition were used.

[0023] 3. Copper sulfate-induced-vomiting suppressing activity test

Healthy frogs were divided into groups of 5 to 10 frogs and fed sludgeworms by gavage in a quantity of 2.0 ml/10 g body weight. Three hours later, the test solution was administered into a lymph sinus at a dose of 10 mg to 500 mg/kg body weight, and the frogs were kept quiet for 30 minutes, avoiding physical stimulation. Thereafter, as the nauseant, a peripheral nauseant copper sulfate (anhydrous) (a product of Yotsuhata Chemical Industries Co.) was administered orally at a dose of 150 mg/kg body weight so as to induce the vomiting of gastric contents, and the vomiting suppressing activity was evaluated using, as the indicator, the prolongation of the emetic latency (the time that took for the initial vomiting to occur) of the test group when compared with the control group.

[0024] 4. Emetic latency expression method

a) emetic latency

It was expressed by each group's mean value \pm standard error (mean value \pm S.E.), and t-test was used for the significant difference test.

b) Prolongation of emetic latency

[(Average emetic latency of the test group/Average emetic latency of the control group) - 1] x 100 (%)

c) Outlier rejection

Outlier rejection in each test group was conducted according to the Smirnov outlier test.

[0025] 5. Results

The results of the antiemetic activity test are shown in Table 2.

[Table 2]

試料(a)	(b) 投与量 (mg/kg体重)	蛙の匹数 (c)	潜伏時間(d) (分)	延長率(e) (%)
対照(f)	—	6	31.0± 2.9	
ポリポレン酸C(g)	10	7	47.9± 3.7	54.5
	30	7	60.0± 7.1*	93.5
対照(f)	—	5	26.6± 4.1	
パキマ酸(h)	10	5	27.8± 4.7	4.5
	30	5	38.6± 5.5	45.1
	50	5	60.6± 7.9**	127.8
	100	5	65.6± 6.9**	146.6
対照(f)	—	6	21.8± 3.0	
デヒドロパキマ酸 (i)	10	6	20.0± 3.7	—
	30	6	35.7± 4.7*	63.8
	50	6	43.0± 5.0**	97.2
対照(f)	—	6	21.8± 3.1	
ポリコ酸A(j)	10	6	17.0± 2.3	—
	30	6	31.7± 4.4	49.5
	50	5	44.4± 5.0**	109.4
	100	5	45.2± 7.7*	113.2
対照(f)	—	5	22.8± 4.6	
ホエレンMeOH抽出物 (k)	500	5	48.6± 13.6	113.2

Key: a) specimen; b) dosage (mg/kg body weight); c) number of frogs; d) latency (in minutes); e) prolongation; f) control; g) polyporenic acid C; h) pachymic acid; i) dehydropachymic acid; j) poricoic acid A; k) hoelen MeOH extract.

The numbers are mean values ± S.E.

Considerably different from the value of the control: *p<0.05,

**p<0.01.

[0026] Evaluation

Among the four kinds of test compounds, polyporenic acid C showed 50 % or more prolongation of emetic latency at the minimum dosage, 10 mg/kg body weight. The remaining three kinds of compounds exhibited approximately 50 % prolongation at a dosage of 30 mg/kg body weight. Remarkable antiemetic activity that was approximately twice that of the control was observed with polyporenic acid C at a dose of 30 mg/kg body weight and with the remaining three kinds of test compounds at a dose of 50 mg/kg body weight.

[0027] Correlation between the structure of hoelen isolated compounds and their derivatives and antiemetic activity

The antiemetic activity of triterpenes isolated from hoelen and of their derivatives are examined from the aspect of correlation between their structure and activity. In the following, the activity of several kinds of triterpenes that exhibit the antiemetic activity of a hoelen extract and delay the onset of copper sulfate-induced vomiting were tested.

[0028] 1. Tested compounds

Pachymic acid (1), dehydropachymic acid (2), 3 β -hydroxy lanosta-7,9(11),24-triene-21-oic acid (3), tumulosic acid (5), dehydroeburicoic acid (6), dehydroeburiconic acid (7), 3-epidehydrotumulosic acid (9), poricoic acid A (10), poricoic acid B

(11), and poricoic acid D (12) used here were isolated from hoelen or hoelen peel in the same manner as the aforesaid isolation method. Methyl pachymate (1a) and diethyl poricoate A (10a) were prepared by processing 1 and 10 respectively with diazomethane. 3-O-acetyl-16 α -hydroxy trametenoic acid (4) and polyporenic acid C (8) were prepared by hydrolysis of their respective N-phthalimide methyl esters (4b, 8b) [see Tai, Takaaki, et al, *Phytochemistry*, 30, 2796-2797 (1991), 31, 2548-2549 (1992), 32, 1239-1244 (1993), and the article submitted to *Phytochemistry*]. 16-O-acetylporicoic acid A (10c) was prepared by the acetylation of 10.

[0029] 2. Test Drugs

Copper sulfate (a product of Wako Pure Chemical Co.) was used as the emetic agent, and chlorpromazine, metoclopramide, and ethyl p-aminobenzoate were used as the positive control drugs.

[0030] 3. Test animals

Black-spotted pond frogs (*Rana nigromaculata*), both males and females and weighing from 6 to 16 g, were purchased from Sankyo Lab Service and used for the test.

[0031] 4. Antiemetic test method

The copper sulfate-induced-vomiting suppression test method was used. The frogs were divided into groups of 6 frogs and fed sludgeworms by gavage three hours prior to the start of the test. The test solution was suspended in 5 % Tween 80 and administered to a lymph sinus at a dose of from 10 to 100 mg/kg, and the frogs were kept quiet for 30

minutes. Thereafter, a nauseant copper sulfate was orally administered, and the time until the onset of vomiting was measured for the following 80 minutes. The result was evaluated based on the prolongation of the vomiting onset time compared with the control. The prolongation of the vomiting onset time indicates an antiemetic activity.

[0032] 5. Results

All the data was expressed by \pm S.E. Analytical significant difference was tested by t-test. The results are shown in Table 3.

[Table 3]

試料 (a)	(b) 投与量 (mg/kg体重)	姪の匹数 (c)	潜伏時間 (分) (d)	延長率 (%) (e)
対照 (f)	—	6	25.7 \pm 4.1	—
バキマ酸	10	6	25.3 \pm 5.1	—
I- a	30	6	35.0 \pm 5.3	36.2
(1)	50	5	55.4 \pm 7.8**	115.6
	100	6	53.3 \pm 6.0**	107.4
対照 (f)	—	5	35.2 \pm 4.5	—
バキマ酸メチル	10	5	27.4 \pm 3.9	—
(1 a)	30	5	42.0 \pm 6.7	19.3
	50	6	52.7 \pm 5.0*	49.7
	100	5	40.0 \pm 3.2	13.6
対照 (f)	—	6	21.8 \pm 3.0	—
デヒドロバキマ酸	10	6	20.0 \pm 3.7	—
I- b	30	6	35.7 \pm 4.7*	63.8
(2)	50	6	43.0 \pm 5.0**	97.2
	100	5	26.2 \pm 5.4	20.2

対照(f)	-	6	24.0±5.7	-
3 β -ヒドロキシ-7,9	10	6	23.5±3.9	-
(11),24-トリエ-21-	30	6	20.0±2.9	-
カイク・ジット	50	6	21.5±4.9	-
(3)	100	5	20.8±3.8	-
対照(f)	-	6	27.2±3.4	-
3-0-アセト-16 α -ヒドロキシ	10	5	37.0±4.2	36.0
トリオノ-1酸	30	4	16.8±6.1	-
	50	5	32.4±10.1	19.1
(4)	100	5	26.6±5.0	-
対照(f)	-	6	16.2±4.6	-
3-0-アセト-16 α -ヒドロキシ	10	4	8.8±3.1	-
トリオノ-1酸	30	5	28.4±8.6	75.3
アルキド・カルボキシル	50	5	10.4±3.2	-
(4b)	100	5	19.4±2.4	-
対照(f)	-	6	32.3±4.5	-
ツムロ酸	10	6	22.8±3.7	-
(5)	30	6	29.5±3.5	-
	50	5	36.4±1.5	12.7
	100	6	33.0±3.4	2.2
対照(f)	-	5	29.8±4.3	-
デヒドロ	10	5	31.0±6.7	4.0
エブリコ酸	30	5	39.8±4.4	33.6
(6)	50	5	26.2±6.8	-
対照(f)	-	6	22.7±3.4	-
デヒドロエブリ	10	6	27.0±3.7	18.9
コシノ酸	30	6	36.7±2.3*	61.7
(7)	50	6	26.2±2.0	15.4
対照(f)	-	5	34.4±3.6	-
ポリボレン酸C	10	5	41.0±3.4	39.2
I-a	30	5	68.2±5.8**	98.3
(8)	50	5	50.4±5.8	46.5
	100	5	37.6±4.1	9.3
対照(f)	-	5	38.8±4.8	-
ポリボレン酸C	10	5	33.0±6.3	-
アルキド・カルボキシル	30	5	29.8±6.1	-
(8b)	50	5	45.4±9.5	17.0
	100	5	59.2±10.7	52.6
対照(f)	-	5	23.2±4.3	-
3-エビデヒドロ	10	5	30.0±6.5	29.3
ツムロ酸	30	5	15.6±4.3	-
(9)	50	5	13.8±5.2	-
	100	5	23.8±3.4	-
対照(f)	-	6	21.8±3.1	-
ポリコ酸A	10	6	17.0±2.3	-
III-a	30	6	31.7±4.4	49.5
(10)	50	5	44.4±5.0**	109.4
	100	6	45.2±7.7*	112.3
対照(f)	-	5	15.4±3.7	-
ポリコ酸Aジメチル	10	5	38.6±4.3*	120.6

(10a)	30	3	23.7±6.9	53.9
	50	5	21.8±8.1	41.6
	100	5	11.8±2.2	—
対照(f)	—	5	22.8±5.8	
16-O-アセチル	10	5	30.2±2.8	32.5
ポリコ酸A	30	5	20.6±4.9	—
(10c)	50	5	52.7±11.0	131.1
	100	5	70.2±7.0	207.9
対照(f)	—	5	25.8±6.1	
ポリコ酸B	10	5	15.4±4.2	—
(11)	30	6	19.0±4.5	—
	50	6	31.8±4.5	23.3
	100	5	4.2±0.5	—
対照(f)	—	6	35.5±3.3	
ポリコ酸D	10	6	21.3±4.1	—
(12)	30	6	41.2±4.8	16.1
	50	6	25.0±3.9	—
	100	6	18.3±4.9	—
対照(f)	—	6	35.7±4.3	
クロルプロマジン(g)	10	6	38.7±3.4	9.6
	30	7	63.0±6.8**	76.5
	50	6	66.2±6.1**	85.4
	100	7	72.6±4.2	103.4
対照(f)	—	7	30.9±4.1	
メトクロプロラミド(h)	10	7	34.7±4.1	12.0
	30	7	39.7±5.6	28.5
	50	6	59.8±4.5***	93.5
	100	7	80.0±0.0(嘔吐なしで158.9	
2)				(1)
対照(f)	—	7	38.1±4.1	
p-アミノ安息香酸	10	7	36.9±4.4	—
エチル(i)	30	7	53.0±3.9	39.1
(経口投与)(j)	50	7	66.7±3.9**	75.1
対照(f)	—	7	27.3±3.9	
p-アミノ安息香酸	10	7	37.4±3.5	37.0
エチル(i)	30	7	46.7±3.9**	70.8
(リンパ腔に投与)(k)	50	7	56.1±3.9**	105.5

*: P<0.05, **: P<0.01 ***: P<0.001

Key: a) specimen; b) dosage (mg/kg body weight); c) number of frogs; d) latency (in minutes); e) prolongation; f) control; g) chlorpromazine; h) metoclopramide, i) ethyl p-aminobenzoate; j) orally administered; k) administered into a lymph sinus; l) 158.9 % without vomiting; 1) pachymic acid II-a; 1a) methyl pachymate; 2) dehydropachymic acid I-b; 3) 3 β -hydroxy lanosta-7,9(11),24-triene-21-oic acid; 4) 3-O-acetyl-16 α -hydroxy tramecanoic acid; 4b) phthalimide methyl ester of 3-O-acetyl-16 α -hydroxy tramecanoic acid; 5) tumulosic acid; 6) dehydroeburicoic acid; 7) dehydroeburiconic acid; 8) polyporenic acid C I-a; 8b) phthalimide methyl ester of polyporenic acid C; 9) 3-epidehydrotumulosic acid; 10) poricoic acid A III-a; 10a)

dimethyl poricoate A; 10c) 16-O-acetyl poricoic acid A; 11) poricoic acid B; 12) poricoic acid D.

[0033] Evaluation and Discussion

The antiemetic activity of the triterpenes isolated from hoelen and of their derivatives was studied by examining the correlation between their structure and activity. When a methanol extract of hoelen was administered at a dosage of 500 mg/kg body weight, 113.2 % prolongation of the vomiting onset time was observed. Compound 1 is a component that is contained in hoelen in the largest quantity, and its methyl ester (1a) also exhibited antiemetic activity, but Compounds 3, 4, 4b, 5, and 6 did not show any notable antiemetic activity. From this result, it is conjectured that the presence of an acetyl group in position 3 and an exomethylene group in position 24 in these triterpenes is essential for antiemetic activity. Compounds 7 and 8 had the activity, but 8b did not show the activity to a notable degree. The phthalimide methyl ester in position 21 reduced antiemetic activity, and the presence of a hydroxyl group in position 16 does not seem to be involved in the activity. With Composition 8, when its dosage was increased (50 to 100 mg/kg body weight), its antiemetic activity decreased, which was an unexpected result. With respect to the 3,4-seco forms of triterpene, Compounds 10 and 10a, which had exomethylene groups in their side chains, exhibited the activity, but 10a showed an unexpected decrease in the activity when its dosage was increased (>30 mg/kg body weight). Several triterpenes that exhibited

the activity had effects comparable to those of the positive control agents: chlorpromazine, metoclopramide, and ethyl p-aminobenzoate.

[0034] From the aforesaid results, several triterpenes having an exomethylene group in position 24 of their side chains were found to have antiemetic activity in frogs. Sharma, et al., has reported that /11 triterpene having an exomethylene group in position 24 of its side chain has an activity to kill some type of lice [Sharma, M. C., et al., *Phytochemistry*, 37, 201-203 (1994)]. This also suggests that the exomethylene group in position 24 of the side chain is a factor that has some effect on physiological activities.

[0035] Acute toxicity test

(1) Tested compound

Poricoic acid A

(2) Test method

Five BDF₁ male mice, 4 weeks old, were acclimated for a week in an animal chamber. Thereafter, they were not fed for 18 hours and then orally given the test compound that was suspended in 0.5 % CMC-Na (dosage: 0.1 ml/10 g body weight).

(3) Test results

There were no deaths in the mice even at a dosage of 1000 mg/kg, and there were no abnormal conditions observed. Thus, the toxicity of the test compound was found to be low.

[0036] Effective dosage and administration method

The compounds of the present invention can be administered to animals and humans directly or together with conventional preparation carriers. There is no specific limitation on their dosage form, and appropriate forms can be selected as necessary. Some examples include oral preparations, such as tablets, capsules, granules, fine granules, powdered drugs, and the like, and parenteral preparations, such as injectable solutions, transdermal preparations, suppositories, and the like.

[0037] With respect to the effective dosage of oral preparations, though it varies depending on the age, weight, and severity of disease of the patient, it is usually adequate to administer from 10 mg to 500 mg, in terms of the weight of the compounds of the present invention, per day for a few times a day to adults. Oral preparations are formulated according to conventional methods, using lactose, starch, sucrose, glucose, mannitol, cornstarch, inorganic salts, and so forth.

[0038] Besides the aforesaid excipients, these preparations may further incorporate binding agents, disintegrants, surface active agents, lubricating agents, fluidizers, flavoring substances, coloring agents, spices, and so forth.

[0039] Examples of the binding agents include starch, dextrin, gum arabic powder, hydroxypropyl starch, crystalline cellulose, ethyl cellulose, methyl cellulose, carboxymethyl cellulose sodium salt, hydroxypropyl cellulose, and polyvinyl pyrrolidone.

[0040] Examples of the disintegrants include starch, hydroxypropyl starch, carboxymethyl cellulose sodium salt, carboxymethyl cellulose calcium salt, carboxymethyl cellulose, low-substitution hydroxypropyl cellulose, and polyvinyl pyrrolidone.

[0041] Examples of the surface active agents include sodium lauryl sulfate, soybean lecithin, egg yolk lecithin, sucrose fatty acid esters, and polysorbate 80.

[0042] Examples of the lubricating agents include talc, waxes, hydrogenated plant oils, sucrose fatty acid esters, magnesium stearate, calcium stearate, and aluminum stearate.

[0043] Examples of the fluidizers include light anhydrous silicic acid, dry aluminum hydroxide gel, synthetic aluminum silicate, and magnesium silicate.

[0044] The compounds of the present invention may be administered in the form of suspension, emulsion, syrup, or elixir, and preparations in these forms may contain flavoring/odor-improving agents and coloring agents.

[0045] In order for the compounds to be able to exhibit an antiemetic effect as parenteral agents, hypodermic injection or intramuscular injection up to from 0.1 mg to 5 mg, in terms of the weight of the compounds of the present invention, per day seems to be usually adequate for adults, although the dosage varies depending on the age, weight, and severity of the disease of the patient.

[0046] These parenteral agents are prepared according to conventional methods, and, as the dilution agent, distilled water for injection, physiological saline, aqueous sucrose solutions, plant oils for injection, sesame oil, peanut oil, soybean oil, corn oil, propylene glycol, polyethylene glycol, and the like can be used. Disinfecting agents, preservatives, stabilizers, and the like may be further added as necessary.

[0047] Other types of parenteral agents include transdermal preparations, such as liquid agents for external use, gel-form ointments, and so forth; suppositories for colorectal administration; and the like, and they are prepared according to conventional methods.

[0048] The following will explain the present invention in further detail by presenting some preparation examples of the present invention, but the present invention is not limited to or restricted by these examples.

[0049] Working Example 1

(1) Polyporenic acid C	10 g
(2) Lactose	62 g
(3) Starch	20 g
(4) Carboxymethyl cellulose calcium salt	5 g
(5) Light anhydrous silicic acid	2 g
(6) <u>Magnesium stearate</u>	1 g
Total	100 g

According to the aforesaid recipe, (1) through (6) were homogeneously mixed, and the mixture was compression-formed with a tabletting machine, thereby obtaining tablets, each weighing 200 mg. These tablets contained 20 mg polyporenic acid C per tablet, and, for adults, a daily dosage of 3 to 6 tablets should be divided and administered a few times a day.

[0050] (Working Example 2)

(1) Poricoic acid A	10 g
(2) Crystalline cellulose	30 g
(3) Lactose	52 g
(4) Carboxymethyl cellulose calcium salt	5 g
(5) Light anhydrous silicic acid	2 g
(6) <u>Magnesium stearate</u>	<u>1 g</u>
Total	100 g

According to the aforesaid recipe, (1), (3), (5), and part of (6) were mixed homogeneously and compression-formed, after which the formed product was pulverized. To this pulverized product were added (2), (4), and the remaining (6) and mixed, and the mixture was compression-formed with a tabletting machine, thereby obtaining tablets, each weighing 200 mg. These tablets contained 20 mg poricoic acid A per tablet, and, for adults, a daily dosage of 3 to 6 tablets should be /12 divided and administered a few times a day.

[0051] (Working Example 3)

(1) Pachymic acid	2 g
-------------------	-----

(2) Dextrin	71 g
(3) Crystalline cellulose	20 g
<u>(4) 7 % hydroxypropyl cellulose solution</u>	<u>20 g</u>
Total	113 g

According to the aforesaid recipe, (1) through (4) were mixed and kneaded homogeneously. After the mixture was granulated with an extrusion granulating machine, the obtained granules were dried and shifted through a No. 12 sieve, thereby obtaining a granule preparation. This granule preparation contained 20 mg pachymic acid per gram, and, for adults, 3 to 6 g per day should be divided and administered a few times a day.

[0052] (Working Example 4)

(1) Dehydropachymic acid	2 g
(2) Dextrin	73 g
(3) Crystalline cellulose	20 g
(4) [illegible]	4 g
<u>(5) Magnesium stearate</u>	<u>1 g</u>
Total	100 g

According to the aforesaid recipe, (1) through (5) were mixed homogeneously and compression-formed with a compression-molding machine, after which the product was ground with a grinder and run through a No. 30 sieve, thereby obtaining a fine granule preparation. This fine granule preparation contained 20 mg dehydropachymic acid per

gram, and, for adults, 3 to 6 g per day should be divided and administered a few times a day.

[0053] (Working Example 5)

(1) Polyporenic acid C	9 g
(2) Cornstarch	77 g
(3) Crystalline cellulose	10 g
(4) [illegible]	3 g
<u>(5) Magnesium stearate</u>	<u>1 g</u>
Total	100 g

According to the aforesaid recipe, (1) through (5) were mixed homogeneously, and 220 mg of the mixture was packed into each No. 2 capsule. This capsule preparation contained 20 mg polyporenic acid C per capsule, and, for adults, 3 to 6 capsules per day should be divided and administered a few times a day.

[0054] (Working Example 6)

(1) [illegible]	1 g
(2) [illegible]	92 g
(3) Olive oil	5 g
<u>(4) [illegible]</u>	<u>2 g</u>
Total	100 g

According to the aforesaid recipe, (1) was dissolved in (3) and (4), and this was mixed with (2) to emulsify it, thereby obtaining an injectable preparation.

[0055] (Working Example 7)

(1) Pachymic acid	1 g
(2) Propylene glycol	20 g
(3) Ethanol	30 g
(4) [illegible] sodium	2 g
(5) [illegible]	<u>48 g</u>
Total	100 g

According to the aforesaid recipe, (2) and (3) were added to (1) and mixed. To this mixture was added (4) that had been separately swollen with part of (5), and the resulting mixture was uniformly kneaded. Thereafter, while being stirred, the mixture was further combined with the remaining (5) and kneaded thoroughly, thereby obtaining a gel-form ointment.

[0056] Working Example 8

(1) Dehydropachymic acid	1 g
(2) Cacao butter	97 g
(3) [illegible] oil	<u>2 g</u>
Total	100 g

According to the aforesaid recipe, (1) was added to (3) and dissolved and dispersed, and (2) was added to this and melted and then kneaded thoroughly. The obtained product was further filled in molds and cooled, thereby obtaining suppositories, each weighing approximately 1.8 g.